8 (4722) 26-29-75. e-mail: veter@belnet.ru

Владимир Николаевич Скворцов, д. вет. н., зав. Белгородским отелом Всероссийского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко. Адрес: Россия, 308002 г. Белгород, ул. Курская, 4. Тел. 8-4722-26-29-75. e-mail: veter@belnet.ru

Стопкевич Ольга Владимировна – соискатель Белгородского отдела ВИЭВ. Адрес: Россия, 308002 г. Белгород, ул. Курская, 4. Тел. 8 (4722) 26-29-75. e-mail: veter@belnet.ru

УДК 636.5:611.36:619:616.98

Громов И.Н., Селиханова М.К., Алиев А.С., Бурлаков М.В., Таймасуков А.А.

(Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, компания «Кубаньптицепром»)

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ЦЫПЛЯТ ПРИ АССОЦИАТИВНОМ ТЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ И ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

Ключевые слова: цыплята, патоморфологические изменения, инфекционная анемия, костный мозг, тимус, бурса Фабрициуса, селезенка, печень

Введение. В последнее время проблема смешанных инфекций в про-мышленном птицеводстве приобретает чрезвычайную актуальность в связи с возрастающей частотой выявления такой формы патологии. Смешанные вирусные и вирусно-бактериальные инфекции не только затрудняют постановку диагноза, но и заметно снижают эффективность проводимых противоэпизоотических мероприятий, нанося при этом существенный экономический ущерб птицеводческой индустрии [3, 8]. Выраженная полиэтиологичность, широко распространенная одновременная циркуляция возбудителей вирусной и бактериальной природы и их накопление во внешней среде, высокая концентрация птицы на ограниченной территории и конвейерная технология производства закономерно приводят к возникновению новых взаимоотношений между макро- и микроорганизмами, а также способствуют естественному пассированию микроорганизмов и усилению их патогенных свойств. Все вышеперечисленное создает весьма благоприятные условия для возникновения инфицирования организма птицы возбудителями нескольких инфекций [1, 2, 3, 5]. Однако взаимодействие различных возбудителей и вызываемые ими в организме птиц патологические процессы при ассоциированном течении до сих пор не изучены. Существует ряд работ, как правило, зарубежных исследователей, посвященных изучению патогенеза, патоморфологических изменений во внутренних органах цыплят, отмеченных при инфекционной анемии (ИАЦ). Однако многие аспекты указанных проблем нуждаются в до-полнительных исследованиях. Так, например, имеющиеся одиночные сооб-щения зарубежных авторов о динамике патоморфологических изменений при инфекционной анемии цыплят охватывают незначительный срок наблюдения. Кроме того, в настоящее время имеются неполные и не систематизированные сведения по дифференциальной патоморфологической диагностике инфекционной анемии и других вирусных болезней.

Целью наших исследований явилось изучение особенностей патомор-фологического проявления инфекционной анемии цыплят при ассоциатив-ном течении с инфекционной бурсальной болезнью (ИББ).

Материал и методы исследований. В качестве материала для исследований использовали патологический материал (трупы цыплят 8-30-дневного возраста, ку-

сочки органов) отобранных в птицефабриках мясного направления. Согласно анамнестическим данным, в хозяйствах наблюдается повышение заболеваемости и падежа птиц различных возрастных групп. Клинически у заболевших птиц отмечалось отставание в росте и развитии, взъерошенность перьевого покрова, апатия, общая анемия. Данные патологоанатомического вскрытия: постовариальная гипотрофия, дистрофия печени и почек, острая венозная гиперемия легких, признаки анемии. В хозяйствах, откуда поступила павшая птица, проводилась плановая профилактическая иммунизация против болезней Марека и Ньюкасла, инфекционного бронхита и ИББ. Цыплята были получены от родителей, иммунизированных живой вакциной против ИАЦ.

При вскрытии трупов цыплят учитывали характер и тяжесть патоморфологических изменений, оформляли патологоанатомический диагноз. Для гистологического исследования отбирали кусочки трубчатых костей, тимуса, фабрициевой бурсы, селезенки и печени. Полученный мате-риал фиксировали в 10%-ном растворе формалина. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике, а также замораживанием [6]. Обезвоживание и парафинирование материала проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном микротоме «MICROM HM 340 E». Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин–эозином [4, 7].

Одновременно у цыплят разновозрастных групп отбирали сыворотки крови для определения уровня специфических антител к вирусам инфекционной анемии и болезни Гамборо. Сыворотки крови тестировали с помощью ИФА (BioChek) согласно Наставлениям к наборам диагностикумов.

Выделение суммарной ДНК из гомогената органов проводили методом фенол-хлороформной экстракции (pH=7,8) [9]. Количественное определение ДНК возбудителя ИАЦ проводили с помощью ПЦР в реальном времени на амплификтаторе «АНК», используя “Набор для выявления вируса инфекционной анемии цыплят (количественный)” (ООО “Фрактал Био”, г. Санкт-Петербург) в соответствии с инструкцией к набору.

Результаты исследований и их обсуждение. Серологическое иссле-дование показало (таблицы 1, 2), что максимальные значения титров антител к вирусу ИАЦ (2656) регистрировались у 8-дневных цыплят (78,3% положительных проб). У 13-дневных цыплят содержание антител к вирусу ИАЦ уменьшалось до уровня 1352 (41,5% положительных проб), а в возрасте 20-30 суток – до уровня 217-255 (4,2% положительных проб). При изучении напряженности иммунитета к вирусу ИББ были установлены волнообразные изменения титров специфических антител.

Так, у 8-суточных цыплят данный показатель составлял 4071 (91,7% положительных проб), а в 14-дневном возрасте – лишь 1530 (100% положительных проб). Значительное повышение титров специфических антител к вирусу ИББ (до уровня 4387 - 3566) регистрировалось у 19- и 29-дневных цыплят (соответственно 37,5% и 91,6% положительных проб). При проведении ПЦР было установлено (таблица 1), что максимальная концентрация генома возбудителя ИАЦ отмечалась у 29-дневных цыплят, а минимальная – в 13-дневном возрасте.

При осмотре трупов и вынужденно убитых птиц в 100% случаев выявлялись атрофия и ожирение долек тимуса, атрофия и склероз Фабрициевой бурсы. Примерно у 30% птиц находили бурсальные кисты, заполненные слизеподобным чаще прозрачным и реже – красноватым содержимым.

При гистологическом исследовании органов и тканей больных цыплят разновозрастных групп выявляются существенные признаки, свидетельствующие о латентном течении инфекционной анемии с наслоением в 20-30-дневном возрасте инфекционной бурсальной болезни.

В костном мозге цыплят всех возрастных групп морфологических изменений установлено не было (рисунок 1). При изучении тимуса 9-дневных цыплят в 50% случаев регистрировались признаки акцидентальной инволюции: резкое уменьшение размеров долек, выраженная делимфатизация коркового вещества (граница между корковым и мозговым веществом нечеткая), увеличение числа телец Гассаля в корковом и мозговом веществе (рисунок 2). В бурсе Фабрициуса 60-70% птиц наблюдалось истончение складок слизистой оболочки, значительное уменьшение размеров лимфоидных узелков с резким утолщением межузелковых перегородок (рисунок 3), уменьшение плотности располо-

Таблица 1. Содержание специфических антител к вирусу ИАЦ в сыворотке крови цыплят-бройлеров.

№ n/n	Возраст (сут.)	Кол-во проб	Положительные	% положительных	Средний титр	Мин.	Макс.	Коэффициент корреляции
1	8	23	18	78,3	2656	430	8840	96
2	13	24	10	41,5	1352	72	9023	142
3	19	24	1	4,2	255	21	1130	128
4	29	24	1	4,2	217	67	1116	103

Таблица 2. Содержание специфических антител к вирусу ИББ в сыворотке крови цыплят-бройлеров.

№ n/n	Возраст (сут.)	Кол-во проб		% положительных	Средний титр	Мин.	Макс.	Коэффициент корреляции
		Всего	Полож.					
1	8	23	22	91,7	4071	184	10287	61
2	13	24	24	100,0	1530	513	5302	90
3	19	24	9	37,5	4387	45	14080	168
4	29	24	22	91,6	3566	45	8738	136

Таблица 3. Концентрация генома вируса ИАЦ в разных органах цыплят-бройлеров (lg/ на грамм ткани).

№ п/п	Возраст (сут.)	Кол-во птиц	Тимус	Селезенка	Фабрициевая сумка	Печень
1	20	10	6,0±0,12 / 80,0%	5,5±0,18 / 60,0%	5,5±0,14 / 70,0%	5,5±0,28 / 50,0%
2	30	10	10,5±0,34 / 100%	7,0±0,42 / 80,0%	10,5±0,28 / 90,0%	6,0±0,15 / 40%
3	14	10	4,5±0,40 / 40,0%	4,0±0,4 / 10,0%	4,0±0,34 / 20,0%	4,0±0,4 / 10,0%
4	9	10	4,5±0,24 / 60,0%	4,5±0,54 / 30%	5,5±0,46 / 40%	4,0±0,42 / 30%

жения лимфоцитов в узелках, выраженная инфильтрация интерстициальной ткани лимфоцитами, гистиоцитами, в меньшей степени - эозинофилами. У многих цыплят к 9-дневному возрасту развивались выраженная делимфатизация белой пульпы селезенки, особенно в подкапсулярных пространствах, с обнажением ретикулярной ткани (рисунок 4). Нередко выявлялись признаки некроза, лизиса и петрификации лимфоидных узелков (рисунок 5). Указанные изменения характерны для латентного течения ИАЦ. В печени цыплят выявлялись выраженная зернистая и мелкокапельная жировая дистрофия с набуханием цитоплазмы и ядер гепатоцитов, венозная гиперемия, отек, умеренная лимфоцитарная инфильтрация, слабовыраженный гемосидероз, в отдельных гепатоцитах – внутриядерные базо – и оксифильные тельца–включения.

В тимусе цыплят 14-дневного возраста происходило расширение мозгового вещества долек, истончение и деструкция коркового вещества. Нередко наблюдалась выраженная атрофия органа с явлениями организации и ожирения (рисунок 6). В красной пульпе селезенки отдельных птиц выявлялись ареактивные микронекрозы.

В печени цыплят отмечались тотальная зернистая и мелкокапельная жировая дистрофия с явлениями некробиоза и лизиса гепатоцитов, диффузная инфильтрация печеночных долек лимфоцитами, лимфоидно – макрофагальные и эозинофильные гранулемы в строме и паренхиме (рисунки 7, 8). В этот и последующие сроки исследований в отдельных гепатоцитах выявлялись внутриядерные базо – и оксифильные тельца – включения.

К 20-дневному возрасту в тимусе большинства цыплят-бройлеров развивалась выраженная гиперплазия с резким расширением коркового вещества (рисунок 9). На наш взгляд, этот процесс имел компенсаторно-приспособительное значение. В

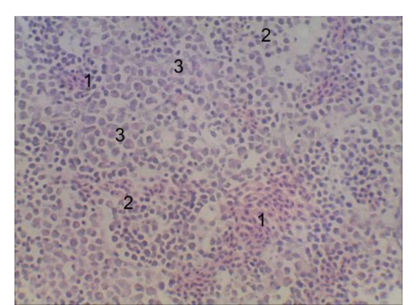


Рисунок 1. Участки эритроидного (1), лимфоидного (2) и миелоидного (3) кроветворения в костном мозге цыпленка 9-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

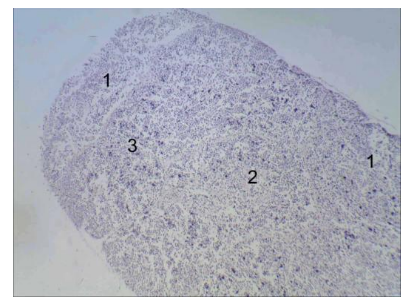


Рисунок 2. Тимус 9-дневного цыпленка. Делимфатизация коркового вещества долек (1), увеличение числа телец Гассаля (2). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 120



Рисунок 3. Бурса Фабрициуса цыпленка 9-дневного возраста. Атрофия лимфоидных узелков (1), резкое утолщение межузелковых перегородок (2). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 120

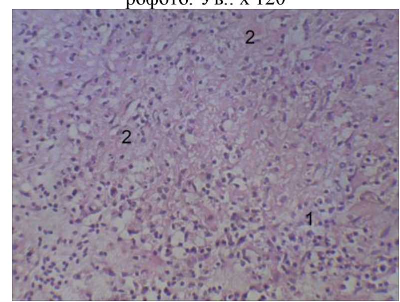


Рисунок 4. Делимфатизация белой пульпы (1) с обнажением ретикулярной ткани (2) в селезенке 9-суточного цыпленка. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

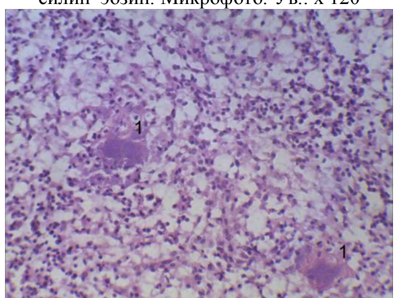


Рисунок 5. Некроз и петрификация лимфоидных узелков (1) в селезенке 9-дневного цыпленка. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

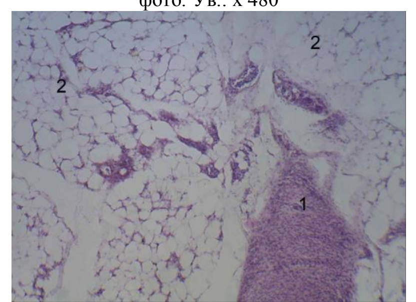


Рисунок 6. Атрофия тимуса 14-суточного цыпленка с явлениями организации (1) и ожирения (2). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 120

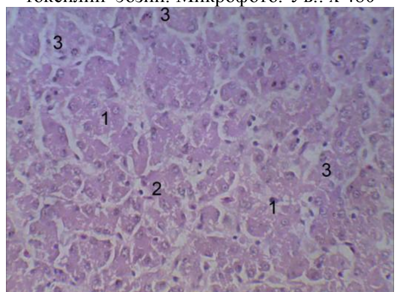


Рисунок 7. Печень цыпленка 14-дневного возраста. Жировая дистрофия гепатоцитов (1), некроз и лизис клеток (2), внутриядерные тельца–включения (3). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

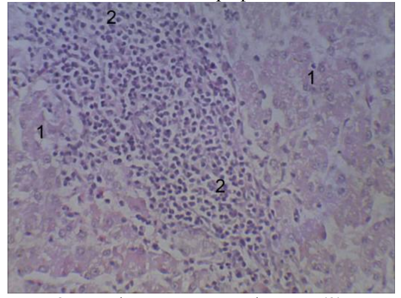


Рисунок 8. Лимфоидные пролифераты (2) в печени цыпленка 14-дневного возраста. Мелко-и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (1) Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

бурсе Фабриция развивались изменения, характерные для подострого и хронического течения ИББ: выраженная делимфатизация корковой, и, особенно, мозговой зон лимфоидных узелков с обнажением ретикулярной и эпителиальной основы

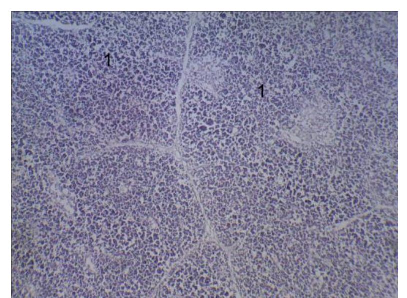


Рисунок 9. Гиперплазия коркового вещества долек тимуса 20-дневного цыпленка (1). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 120

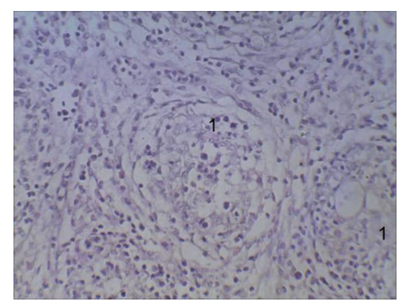


Рисунок 10. Бурса Фабрициуса 20-дневного цыпленка. Появление структур типа «пчелиных сот» (1). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

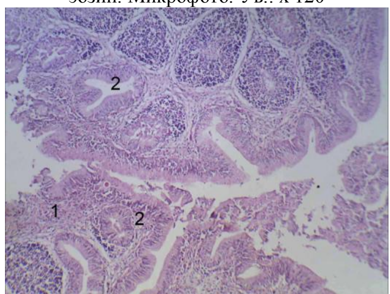


Рисунок 11. Фабрициева бурса цыпленка 20-дневного возраста. Выражены процессы организации (1). Появление желез на месте лимфоидных узелков (2). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 120

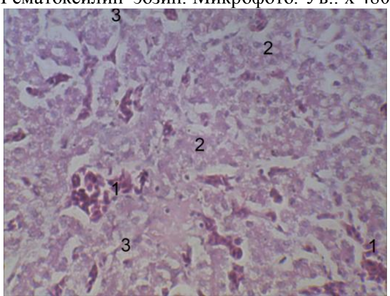


Рисунок 12. Печень цыпленка 20-дневного возраста. Тромбоз синусоидных капилляров (1), некроз гепатоцитов (2), набухание Купферовских клеток (3). Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

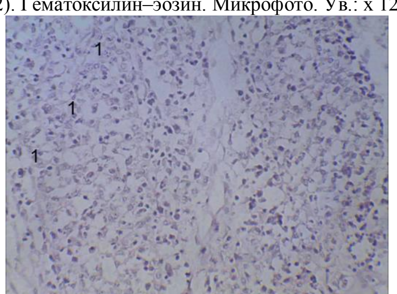


Рисунок 13. Фабрициева бурса цыпленка 30-дневного возраста. Тотальный апоптоз лимфоцитов. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

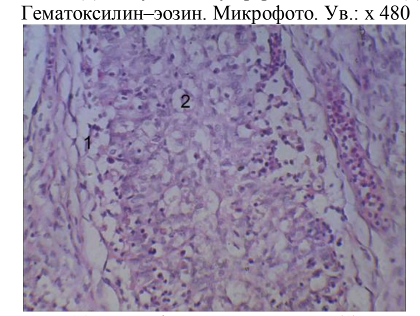


Рисунок 14. Делимфатизация корковой (1) и мозговой зон (2) лимфоидных узелков в фабрициевой бурсе 30-дневного цыпленка. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

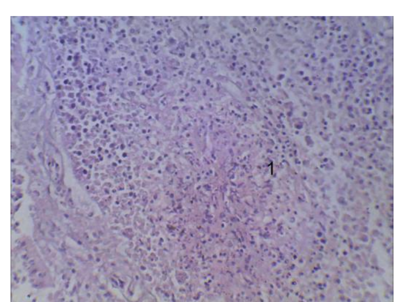


Рисунок 15. Микронекрозы (1) в лимфоидных узелках фабрициевой бурсы 30-дневного цыпленка. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

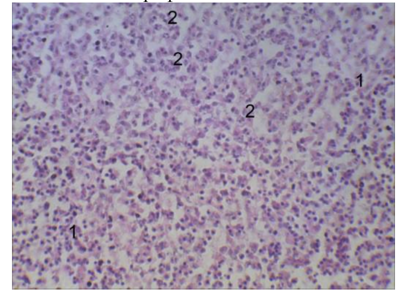


Рисунок 16. Делимфатизация (1), появление апоптозных телец (2) в селезенке 30-суточного цыпленка. Гематоксилин–эозин. Микрофото. Ув.: х 480

в виде «пчелиных сот» (рисунок 10). Также были выражены отек и лимфоцитарная инфильтрация стромы, явления кариорексиса, появление большого числа апоптозных телец в лимфоидных узелках. У 50% птиц были выражены процессы организации с расширеним межузелковых перегородок (рисунок 11). В подэпителиальных

пространствах на месте узелков появлялись множественные микрокисты и железистые структуры. В печени цыплят в этот срок исследований наблюдались тяжелые гистологические изменения (рисунок 12): тромбоз синусоидных ка-пилляров, некроз и лизис большинства гепатоцитов с явлениями кариорексиса, набухание Купферовских клеток, выраженный гемосидероз.

В 30-дневном возрасте, как и в предыдущий срок исследований, в ти-мусе цыплят наблюдалась выраженная гиперплазия лимфоцитов с расширением коркового вещества долек. Мозговое вещество порой не визуализировалось. В бурсе Фабрициуса регистрировался тотальный апоптоз лимфоцитов, лизис клеток с обнажением ретикулоэпителиальной основы лимфоидных узелков, появление структур типа «пчелиных сот» (рисунок 13, 14). Нередко в узелках локализовались очаги коагуляционного некроза (рисунок 15). У отдельных птиц наблюдалась выраженная организация собственной пластинки слизистой оболочки. Гистологические изменения в селезенке птиц характеризовались различной степенью тяжести. У одних птиц выявлялся кариорексис ядер отдельных лимфоцитов, появление апоптозных телец в белой пульпе (рисунок 16). В других случаях отмечались признаки делимфатизации с наличаем единичных арективные микронекрозы в красной пульпе.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют, что спон-танное заражение вакцинированных цыплят цирко- и бирнавирусами приводит к развитию тяжелого комбинированного приобретенного иммунодефицита, на фоне которого доминируют морфологические признаки инфекционнной бурсальной болезни. В случае такой ассоциации инфекционная анемия протекает латентно или с явлениями патоморфоза, без развития характерных гистологических изменений в костном мозге, а вакцинопрофилактика реовирусной инфекции и болезни Гамборо оказывается малоэффективной.

Развитие в 20-30-дневном возрасте лимфоидной гиперплазии в тимусе, выраженной лимфоидно-макрофагальной инфильтрации неиммунных органов является, на наш взгляд, компенсаторно-приспособительным процессом, направленным на становление специфического иммунитета к вирусу ИАЦ.

Таким образом, морфологическое исследование является очень важ-ным и необходимым приемом диагностики ИАЦ, протекающей как в виде моноинфекции, так и в виде ассоциации с другими вирусными болезнями.

Резюме: В статье рассмотрены патоморфологические изменения в органах иммунной и других систем организма цыплят при латентном течении инфекционной анемии. Описаны особенности патологоанатомического проявления инфекционной анемии при ассоциативном течении с инфекционной бурсальной болезнью. Показана роль морфологических методов исследования для диагностики моно- и ассоциативного течения инфекционной анемии цыплят.

SUMMARY

In article pathomorphologic changes in organs of immune and other systems of chickens by spontaneous flow of infectious anaemia are surveyed. Features pathoanatomical exhibiting of infectious anaemia are described at associated flow with infectious bursal disease. The role of histological researches for diagnosis mono- and associated flows of infectious anaemia of chickens is shown.

Keywords: chickens, pathomorphological changes, infectious anaemia, bone marrow, thymus, bursa of fabricius, spleen, liver.

Литература

1. Алиев А.С., Бурлаков М.В., Зимин К.В., Серова Н.Ю. Цирковирусная инфекция птиц // Ветеринария. — 2011. — № 9. — С. 27–32.
2. Гусева Е.В., Сатина Т.А., Фомина Т.А. Инфекционная анемия цыплят: Обзор литературы. — Владимир: ВНИИЗЖ, 1997. — 72 с.
3. Джавадов Э.Д., Дмитриева М.Е., Занько М.А., Людькова Е.С. Ассоциированное течение инфекционной бурсальной болезни и инфекционной анемии цыплят. Проблема и пути ее решения // Био. — 2010. — № 9. — С. 22–23.
4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
5. Лобанов В.А., Волкова М.А., Дрыгин В.В., Ерошина Т.И., Борисов В.В. Серологический мониторинг инфекционной анемии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса // Вестник РАСХН. — 2003. — № 2. — С. 66–69.
6. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л., 1969. – 432 с.
7. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.]; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
8. Стоквис Б. Смешанные инфекции кур-несушек / Материалы VI Межд. ветер. конгресса по птицеводству. — Москва, 2010. — С. 82–84.
9. Chomczynski, P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Anal. Biochem. – 1987. - Vol.162, № 1. – P.156-159.

Контактная информации об авторах для переписки
Громов И.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент
Селиханова М.К., аспирант, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», Республика Беларусь
Алиев А.С., доктор ветеринарных наук, профессор
Бурлаков М.В., аспирант, ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Российская Федерация
Таймасуков А.А., кандидат ветеринарных наук, Генеральный директор ОАО «Компания Кубаньптицепром»

УДК 619:639.3

Дубинин А.В., Шинкаренко А.Н.
(Волгоградский ГАУ)

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ОБСЕМЕНЕННОСТЬ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ ПРИ ДИПЛОСТОМОЗЕ И ПОСТОДИПЛОСТОМОЗЕ

Ключевые слова: Болезни рыб, диплостомоз, постодиплостомоз, бактериологическая обсемененность промысловых рыб.

Введение.

Постодиплостомоз и диплостомоз довольно широко распространенные заболевания среди рыб разных видов, как в естественных водоемах, так и в нерестово-выростных хозяйствах Волгоградской области [1,3].

Микробная обсемененность рыбы находится в прямой зависимости от количества и качества микрофлоры водоема, а так же таких факторов как паразитарные болезни. Из литературных данных следует, что рыба обсеменена преимущественно мезофильными микроорганизмами, которые и составляют группу условнопатогенных и патогенных бактерий. Причем известно, что в воду могут попасть кишечные палочки, энтерококки, сальмонеллы, шигеллы, клостридии [2].

Так как мясо рыбы по химическому составу близко к мясу млекопитающих, то при высоком уровне бактериальной обсемененности рыбы мезофильной микрофлорой, уменьшаются сроки хранения свежей и замороженной рыбы, а так же при употреблении таких рыбных продуктов в пищу возможно возникновение токсикоинфекций.

Цимлянское водохранилище является одним из крупнейших водохранилищ Волгоградской области, где ведется рыбный промысел. В связи с этим наиболее актуальным вопросом является изучение бактериальной обсемененности рыбы в условиях данного водохранилища.

Материалы и методы исследований.

Исследования рыбы проводили в условиях Цимлянского водохранилища Волгоградской области, за период 2009-2011 года. Причем исследованию подвергнуто 5860 экземпляров рыб разных видов, которые имеют основное промысловое значение для Волгоградской области - лещ, густера, судак, берш, плотва, карась, синец, сазан, толстолобик.

Диагностику диплостомоза и постодиплостомоза проводили с использованием метода полного гельминтологического вскрытия рыб по методу В.А. Догеля (1970).

Отбор проб для бактериологического исследования проводили по общепринятой методике с последующими посевами материала (образцы кожи и жабр) на общеупотребительные и специальные питательные среды. Для установления систематической принадлежности микроорганизмов были использованы определители (Краткий определитель Берги, 1980; Определитель бактерий Берджи, 1997).

Результаты исследований.

По результатам наших исследований